

KUPFER- und MAGNESIUMSPIEGEL

in Skelettmuskel und Leber von Ratten bei experimenteller
Dystrophie, sowie nach Therapie mit organischen
und anorganischen Spurenelementverbindungen

von

Luise Müller-Engeßer

aus

Parsberg/Opf.

Aus dem Pathologischen Institut
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. Volker Becker

KUPFER- und MAGNESIUMSPIEGEL

in Skelettmuskel und Leber von Ratten bei experimenteller
Dystrophie, sowie nach Therapie mit organischen
und anorganischen Spurenelementverbindungen

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Luise Müller-Engeßer

aus

Parsberg/Opf.

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Priv.-Doz. Dr. G. Brandt
Korreferent: Prof. Dr. V. Becker
Tag der mündlichen Prüfung: 03.02.1981

A.	Einleitung	1
B.	Material und Methoden	
I.	Tierversuche	
1.	Allgemeines	3
2.	Versuchsgruppen	
Versuchsreihe I (ohne Salzwasser-		
schädigung)		4
Versuchsreihe II (mit Salzwasser-		
schädigung)		6
3.	Übersicht der Versuchsgruppen	8
II.	Organaufarbeitung	
1.	Veraschung der Gewebsproben	9
2.	Vermessung der Gewebsproben	9
3.	Prinzip der Atomabsorptionsspektroskopie	10
4.	Auswertung der Messungen	11
5.	Histometrie	11
C.	Ergebnisse	
I.	Gewichtsverhalten und körperlicher	
Zustand		13
1.	Versuchsreihe I	13
2.	Versuchsreihe II	13
II.	Obduktionsbefunde	
1.	Versuchsreihe I	16
2.	Versuchsreihe II	17
III.	Mineralanalysen	
1.	Kupferanalyse des Oberschenkelmuskels	18
2.	Kupferanalyse der Leber	19
3.	Magnesiumanalyse des Oberschenkelmuskels	22
4.	Magnesiumanalyse der Leber	22
IV.	Histometrische Auswertung	
1.	Oberschenkelmuskel	25
2.	Leber	28
D.	Diskussion	33
E.	Zusammenfassung	40
F.	Anhang (Tabellarische Übersicht der Mine-	
ralanalyse in μMol)		
1.	Kupferanalyse des Oberschenkelmuskels	42

	<u>Seite</u>
2. Kupferanalyse der Leber	43
3. Magnesiumanalyse des Oberschenkelmuskels	44
4. Magnesiumanalyse der Leber	45
G. Literaturverzeichnis	46
H. Lebenslauf	

Einleitung

Kupfer und Magnesium zählen zu den essentiellen Bestandteilen des menschlichen Organismus (Schwarz 1975). Führendes Symptom eines Kupfermangels ist eine hypochrome microcytäre Anämie (Lang 1974). Die Funktion des Kupfers beschränkt sich aber nicht nur auf die Förderung der Eisenresorption aus dem Intestinaltrakt und auf die Beteiligung an der Hämoglobinsynthese (Buddecke 1974). Als Bestandteil der Cytochromoxydase, der terminalen Oxydase der Atmungskette, ist Kupfer unentbehrlich für die Zellatmung. Außerdem erwies sich Kupfer als Bestandteil der Katalase, der Tyrosinase, der Ascorbinsäure-Oxydase und der Uricase (Buddecke 1974).

Hauptaufgabe des vorwiegend intrazellulär gelegenen Magnesiums ist die Aktivierung nahezu aller Enzyme, die beim Umsatz von ATP bzw. der anderen energiereichen Phosphate UTP, GTP, ITP beteiligt sind. Magnesium stellt daher einen wichtigen Faktor bei der Muskelkontraktion und der Erregungsübertragung vom Nerv auf den Muskel dar (Lang 1974). Magnesium wirkt ferner bei der Biosynthese von DNA und RNA mit (Buddecke 1974). Typische Symptome des Magnesiummangels sind beim Menschen neben der Abnahme des Blut-Magnesium-Spiegels Muskeltremor, choreiforme Bewegungen, mitunter Krämpfe und Delirien (Lang 1974).

Verglichen mit dem Wissen über Kupfer und Magnesium auf biochemischen Gebiet, ist über die Rolle dieser Elemente im pathologisch-anatomischen Bereich noch wenig bekannt. Bis vor wenigen Jahren wurde den meisten Spurenelementen, sowie dem Makroelement Magnesium, ernährungsphysiologisch und klinisch kaum Bedeutung beigemessen (Schwarz 1974). Nicht zuletzt die Verbesserung ihrer Nachweismethoden durch Einführung der Atomabsorptionsspektroskopie und Neutronenaktivierungsanalyse in die tägliche Analytik dürfte das

Interesse der Humanmedizin an diesen Elementen gefördert haben. Dies führte auch zur Anwendung von Medikamenten, die Spurenelemente, einschließlich Magnesium, in besonderer Zusammensetzung enthalten.

Aber in welcher Weise beeinflussen Spurenelemente ein akutes Krankheitsbild ?

Dieser Frage wird in vorliegendem Tierexperiment nachgegangen. Das gewählte Dystrophiemodell sollte zu keiner chronischen Mangelsituation, sondern zu einem akuten dramatischen Krankheitsbild führen, wie es häufig bei Intensivpatienten vorliegt. Daran wird der Einfluß einer Spurenelementtherapie auf die Restitution an Hand der Parameter Gewichtszunahme sowie Kupfer- bzw. Magnesium-Spiegel von Skelettmuskel und Leber untersucht.

Material und Methoden

Allgemeines

Die Tierversuche wurden mit männlichen Sprague-Dawley-Ratten der Tierzuchtanstalt WIGA durchgeführt. Die Tiere wogen bei Versuchsbeginn durchschnittlich 140 Gramm. Sie wurden einzeln in Plastikgefäßen gehalten und je nach Gruppenzugehörigkeit mit Standardfutter (Presslinge, Fa. Altronin), Bruchreis, Aqua bidestillata und 3,5 %iger NaCl-Lösung ernährt. Als Elektrolytlösung wurde Inzolen^R (Dr. Franz Köhler Chemie KG, 6146 Alsbach-Bergstraße) bzw. eine Mischung von Inzolen-Bestandteilen in anorganischer Form verwendet.

Zehn ml Inzolen^R enthalten:

500 mg Kalium-DL-asparaginat	= 2,78 mval K ¹⁺
500 mg Magnesium-DL-asparaginat	= 2,77 mval Mg ²⁺
5 mg Kupfer-DL-asparaginat	= 0,03 mval Cu ²⁺
3 mg Zink-DL-asparaginat	= 0,02 mval Zn ²⁺
2 mg Mangan-DL-asparaginat	= 0,01 mval Mn ²⁺
2 mg Kobalt-DL-asparaginat	= 0,01 mval Co ²⁺

Zehn ml anorganische Mischung enthalten:

500 mg Kaliumchlorid	= 2,78 mval K ¹⁺
500 mg Magnesiumchlorid	= 2,77 mval Mg ²⁺
5 mg Kupferchlorid	= 0,03 mval Cu ²⁺
3 mg Zinksulfat	= 0,02 mval Zn ²⁺

In der Humanmedizin wird Inzolen^R zur Verhütung und Behandlung postoperativer Stoffwechselanomalien angewandt. Der Hersteller bezeichnet Inzolen^R als Kationen-carrier und Enzyeffektor zur Restitution intrazellulärer Elektrolytverluste und zur Stabilisierung enzymatisch gesteuerter Stoffwechselprozesse mit folgenden Indikationen:

1. Zur Operationsvorbereitung
 - bei Herz- und Kreislaufgeschädigten
 - bei Patienten in reduziertem Allgemeinzustand
 - bei Digitalisunverträglichkeit
2. Zur Verhütung oder Restituierung metabolischer Störungen und Entgleisungen intrazellulärer Kationenspiegel (Elektrolytbilanz) bei folgenden chirurgischen Maßnahmen:
 - Magen- und Darmresektion, paralytischer Ileus, Cholecystektomie
 - Urologische Operationen, nicht bei schweren Nierenparenchymschäden
 - Größere gynäkologische Operationen
 - Thorakotomie, Lobektomie, Pneumektomie
 - Herzoperationen, einschließlich Herz-Lungen-Maschine
 - Unfallchirurgie, Schädel-Hirn-Verletzungen, Neurochirurgie
 - Shunt-Operationen
 - Schwere Blutungen und Schock
3. Als Thrombozytenschutz zur Verminderung des Thrombose- und Embolierisikos

Als Kontraindikationen gelten schwere Nierenparenchymschäden mit Ausscheidungshemmung bei hochgradiger Niereninsuffizienz sowie ein AV-Block.

Versuchsgruppen

Versuchsreihe I (ohne Salzwasserschädigung)

1. Versuchsgruppe / Kontrollgruppe "K"

Vier Ratten wurden unter täglicher Gewichtskontrolle mit Presslingen und Leitungswasser ad libitum ernährt. Am 9. Versuchstag wurden sie in Äthernarkose getötet und anschließend seziiert. Es wurden die Leber sowie beide Oberschenkelmuskeln entnommen und sofort gewo-

gen. Der linke Quadriceps femoris und der große Leberlappen wurden verascht und zur Magnesium- und Kupferbestimmung mit dem Atomabsorptionsspektrophotometer vorbereitet (siehe Abschnitt Organauferarbeitung). Vom rechten Oberschenkelmuskel und der restlichen Leber wurden nach Fixierung in 10 %igem Formalin und Paraffineinbettung histologische Schnitte angefertigt und mit HE gefärbt.

2. Versuchsgruppe / Reisgruppe "R"

Vier weitere männliche Ratten bekamen Bruchreis und Aqua bidest. ad libitum. Sie wurden ebenfalls täglich gewogen und am 9. Versuchstag in Äther getötet. Mit Leber und Oberschenkelmuskeln wurde wie bei 1. Versuchsgruppe beschrieben verfahren.

3. Versuchsgruppe / Inzoleninjektion "I. 1ml/100 g"

Diesen vier Ratten wurde an den ersten drei aufeinanderfolgenden Tagen nach Gewichtsbestimmung 1 ml Inzolen^R pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Ihre Nahrung bestand wie bei der Reisgruppe aus Bruchreis und Aqua bidest. ad libitum. Am 9. Tag erfolgte Tötung und Organentnahme wie bei Gruppe eins erläutert.

4. Versuchsgruppe / Injektion der anorganischen

Mischung von Inzolenbestandteilen "I.1. 1ml/100 g"

Vier Ratten bekamen am 1., 2. und 3. Versuchstag, nachdem sie gewogen waren, die anorganische Mischung von Inzolenbestandteilen in einer Dosierung von 1 ml/100 g Körpergewicht i.p. injiziert. Zur Ernährung wurden Bruchreis und Aqua bidest. gegeben. Auch sie wurden nach 9 Tagen mit Äther getötet; Organentnahme und Aufarbeitung wie bei 1. Versuchsgruppe beschrieben.

Versuchsreihe II (Vorschädigung durch Salzwasser)

Dieses Experiment gliedert sich in zwei Abschnitte. Ziel des ersten Abschnittes war die Reduzierung des Allgemeinzustandes der Tiere. Der zweite Abschnitt umfaßt die Erholungsphase.

Während des ersten Versuchsabschnittes wurde mit allen Gruppen gleich verfahren: Die Tiere wurden in Einzelkäfigen ohne Streu gehalten. Bis zum 5. Versuchstag erhielten sie keine feste Nahrung, sondern nur 3,6 %ige NaCl-Lösung ad libitum. Am 5. Tag wurde das Salzwasser abgesetzt und Reis und Aqua bidest. gegeben. Nach 3 Tagen mußten die Tiere wieder hungern. Sie erhielten nur noch Aqua bidest. Alle Ratten wurden täglich gewogen.

5. Versuchsgruppe / Dystrophie "D"

Vier männliche Ratten wurden wie oben beschrieben ernährt. Am 10. Versuchstag wurden die Tiere mit Äther getötet. Entnahme von Leber und Oberschenkelmuskeln sowie die Organaufarbeitung erfolgte wie bei erster Versuchsgruppe erläutert.

6. Versuchsgruppe / Aqua bidest.-Injektion "A.bid."

1 ml/100 g"

Mit weiteren vier Ratten wurde wie oben aufgeführt verfahren. Ihnen wurde am 10., 11. und 12. Versuchstag Aqua bidest. 1 ml/100 g Körpergewicht i.p. injiziert. Außerdem wurde ab 10. Tag wieder Reis gefüttert. Am 18. Versuchstag erfolgte Tötung und Organentnahme. Leber und Oberschenkelmuskeln wurden wie bei erster Versuchsgruppe beschrieben zur Veraschung bzw. Histologie vorbereitet.

7. Versuchsgruppe / Inzoleninjektion "I. 0,5 ml/100 g"

Nach oben beschriebener Hunger- und Durstphase bekamen

vier Ratten Inzolen^R in einer Dosierung von 0,5 ml pro 100 Gramm Körpergewicht i.v. injiziert. Nach der ersten Injektion am 10. Versuchstag bekamen die Tiere wieder täglich Reis. Die beiden anderen Injektionen wurden an den zwei folgenden Tagen verabreicht. Tötung, Sektion und Organaufarbeitung wurde entsprechend der ersten Versuchsgruppe vorgenommen.

8. Versuchsgruppe / Inzoleninjektion "I. 1ml/100 g"

Vier Ratten mußten wie oben geschildert hungern und dursten. Ab 10. Versuchstag erhielten sie wieder Bruchreis ad libitum. Diesen Tieren wurde 1 ml Inzolen^R pro 100 g Körpergewicht am 10., 11. und 12. Versuchstag i.p. gespritzt. Wie bei Gruppe eins beschrieben wurden die Tiere am 18. Tag getötet, die Organe entnommen und verarbeitet.

9. Versuchsgruppe / Injektion der anorganischen

Mischung von Inzolenbestandteilen "I.a. 0,5 ml/100 g"

Weiteren vier männlichen Ratten wurde nach der neuntägigen Hunger- und Durstphase am 10., 11. und 12. Versuchstag die anorganische Mischung von Inzolenbestandteilen in einer Dosierung von 0,5 ml/100 g Körpergewicht i.p. injiziert. Nach der ersten Injektion bekamen die Tiere wieder täglich Reis. Am 18. Tag erfolgte Tötung und Organentnahme wie bei erster Gruppe.

10. Versuchsgruppe / Injektion der anorganischen

Mischung von Inzolenbestandteilen "I.a. 1 ml/100 g"

Diese Gruppe bestand ebenfalls aus vier Ratten, die wie alle Tiere der Versuchsreihe II neun Tage lang hungerten und dursteten. An den drei folgenden Tagen bekamen sie 1 ml/100 g Körpergewicht der anorganischen Elektrolytlösung i.v. injiziert. Auch sie erhielten ab 10. Versuchstag wieder Reis und wurden am 18. Tag in Äther getötet. Mit Leber und Oberschenkelmuskeln wurde wie bei erster Gruppe beschrieben verfahren.

Übersicht der Versuchsgruppen

Versuchsreihe I: Gruppe 1 - 4 (ohne Schädigung)

Versuchsreihe II: Gruppe 5 - 10 (mit Schädigung)

Versuchs- gruppe	Symbol	Schädigung 9 Tage	a) Therapie 3 Tage b) Ernährung 9 Tage
1	K	-	a) - b) Presslinge, Leitungswasser
2	R	-	a) - b) Reis, Aqua bid.
3	I. 1 ml/100 g	-	a) 1 ml Inzolen ^R / 100 g KG b) Reis, Aqua bid.
4	I.a. 1 ml/100 g	-	a) 1 ml anorg. Lösg./100 g KG b) Reis, Aqua bid.
5	D	3,6 % NaCl	a) - b) -
6	A. bid. 1 ml/100 g	3,6 % NaCl	a) 1 ml Aqua bid./ 100 g KG b) Reis, Aqua bid.
7	I. 0,5 ml/100 g	3,6 % NaCl	a) 0,5 ml Inzolen ^R / 100 g KG b) Reis, Aqua bid.
8	I. 1 ml/100 g	3,6 % NaCl	a) 1 ml Inzolen ^R / 100 g KG b) Reis, Aqua bid.
9	I.a. 0,5 ml/100 g	3,6 % NaCl	a) 0,5 ml anorg. Lösg./100 g KG b) Reis, Aqua bid.
10	I.a. 1 ml/100 g	3,6 % NaCl	a) 1 ml anorg. Lösg./100 g KG b) Reis, Aqua bid.

Organaufarbeitung

Veraschung der Gewebeproben

Der große Leberlappen und der linke musculus quadriceps femoris wurden sofort nach Entnahme in einem Vakuumtrockenschrank bei 80 bis 100 Grad Celsius und 200 Torr getrocknet. Anschließend wurden von den getrockneten Organen auf einer Sartorius-Semi-Mikrowaage 200 mg schwere Gewebeproben in gereinigte Teflonbecher eingewogen. Um eine möglichst große Homogenität zu erreichen, wurden die Gewebestückchen mit einem Porzellanstab fein zerkleinert. Unter dreimaliger Zugabe von je 2 ml rauchender Salpetersäure und 0,5 ml 70 %-iger Perchlorsäure wurden die Gewebeproben in den offenen Teflonbechern auf dem Sandbad bei 150° C feucht verascht. Um chemischen Interferenzen bei der Analyse vorzubeugen, wurde sorgfältig auf das restlose Verdampfen der Säuren geachtet. Zu jeder Serie von Gewebeproben wurden zwei Blindwerte mitgeführt.

Der nach der Veraschung verbliebene Salzrückstand wurde noch warm mit 0,5 %-igem Lanthanchlorid gelöst. Auf einer Sauterwaage wurde dann das Ganze in einem Einmalreagenzglas mit LaCl_3 auf genau 10,0 Gramm Flüssigkeit aufgefüllt. Die Zugabe von Lanthanchlorid ist zur Bindung von Phosphaten und Vermeidung von Interferenzen bei der Elementvermessung erforderlich.

Vermessung der Gewebeproben

Die Magnesium- und Kupferanalysen wurden am Atomabsorptionsspektralphotometer Beckmann 495 durchgeführt. Die Meßlösungen wurden gegen Kupfer- bzw. Magnesium-Standard-Eichlösungen Merck Titrisol vermessen. Für die Magnesiumbestimmung wurde der oben beschriebene Lanthanchloridansatz nochmals 1 : 20 verdünnt.

Unter folgenden Arbeitsbedingungen am Atomabsorptionsspektralphotometer wurden Kupfer und Magnesium vermessen:

		Kupfer	Magnesium
Wellenlänge	(nm)	324,7	285,2
Spreizung		5,0	5,0
Lampenstromstärke	(mA)	10,0	20,0
Spaltbreite	(mm)	0,3	0,15
Brennerhöhe	(cm)	0,7	0,7
Gasgemisch (Luft : Azetylen)		25:6	25:7
Zeitkonstante	(sec)	8,0	8,0

Das Prinzip der Atomabsorptionsspektroskopie

Bei dieser Methode werden nicht wie bei der herkömmlichen Flammenemissionsmethode frei werdende Lichtquanten gemessen, sondern die Schwächung elementspezifischer Spektrallinien. Als spektrale Lichtquelle wird eine Hohlkathodenlampe verwendet, deren Kathodenmaterial aus dem zu bestimmenden Element - hier also Kupfer und Magnesium - besteht. Das Licht dieser Lampe wird moduliert und durch eine Flamme geführt, in welche die jeweils zu messende Probe zerstäubt wird. Befinden sich nun Atome des zu bestimmenden Elementes in der Flamme, so werden die Emissionen der Linien des Hohlkathodenlampenspektrums durch sogenannte Resonanzabsorption geschwächt. Diese Lichtschwächung wächst mit der Anzahl der absorbierenden Atome in der Flamme. Der Grad der Absorption hängt von der Anzahl der Atome im Grundzustand ab, da nur diese Energie absorbieren können. Bei den Temperaturen, die in einer normalen Flamme herrschen, liegen 99,9 % der Atome im Grundzustand vor (Welz 1972).

Die Lichtschwächung ist daher proportional zur Atomkonzentration, d. h. die Extinktion der Meßwerte stellt ein direktes Maß für die Elementkonzentration dar.

Auswertung der Messungen

Die Extinktionen wurden von einem Laborschreiber aufgezeichnet und zum größten Teil von Hand ausgewertet. Die Kupfer- bzw. Magnesiumkonzentrationen der Gewebe wurden direkt aus den Konzentrationen einer im Meßbereich verlaufenden Eichkurve bestimmt. Die Umrechnung in mg/g Trockengewebe erfolgte nach folgender Formel:

$$\frac{\text{Konz. d. Probe} \times 100}{\text{Einwaage d. Probe}} = \text{mg/g Trockengewicht}$$

Eine Serie der Meßwerte wurde mit Hilfe eines Kleincomputers nach folgender Formel ausgewertet (Lossnitzer):

$$\frac{\text{Konz. d. Standard (ppm)} \times \text{Ext. d. Probe} \times \text{Lösungsv. d. Gew. (1)}}{\text{Ext. d. Standard} \times \text{Gewicht d. Gew.} \times \frac{\text{Äquiv. Gewicht d. Elementes}}{\text{Gewicht d. Gew.}}} \times 10^6 = \text{mval/kg}$$

Histometrie

Die histometrischen Untersuchungen wurden jeweils am rechten Oberschenkelmuskel, sowie am restlichen Teil der Leber vorgenommen. Die histologischen Schnitte waren nach Fixierung der Organe in 10 %-igem Formalin und Paraffineinbettung angefertigt worden und mit HE gefärbt.

Unter einem Lichtmikroskop wurden mit Hilfe eines Integrationsokulars bei 400-facher Vergrößerung von der Leber Zellkerne, Cytoplasma und Linsuloide prozentual ausgezählt. Beim Oberschenkelmuskel wurde der

Prozentanteil von Zellkernen, Cytoplasma und Interstitium ermittelt.

Das Integrationsokular projiziert ein rundes Punktnetz - hier mit 36 Punkten - über die Gewebsstruktur. Um die Orientierung beim Zählen zu erleichtern, sind die Punkte untereinander mit Linien verbunden. Das Zählfeld ist kleiner als das Blickfeld. Nach Scharfeinstellung werden die Netzpunkte gezählt, welche die gesuchte Gewebsstruktur, z. B. Zellkern, treffen. Die Genauigkeit läßt sich mit steigender Punktzahl erhöhen. Es wurden daher pro Schnitt 10 verschiedene Zählfelder gewählt. Aus der Gesamtpunktzahl - hier 360 - und der Gesamtzahl der Treffer wurde der prozentuale Anteil der verschiedenen Gewebstrukturen errechnet (Burck 1969).

Ergebnisse

Gewichtsverhalten und körperlicher Zustand

Versuchsreihe I

Der Gewichtsanstieg zeigt bei allen Gruppen dieser Versuchsreihe etwa den gleichen Verlauf: Nach zwei Tagen geringer Zunahme folgt bei allen ein steilerer Anstieg, um dann ab dem siebten Tag langsam auszu-
laufen. Insgesamt jedoch ist die tägliche Gewichtszunahme der Kontrolltiere größer, als die der Tiere mit Spurenelementsubstitution und Reisernährung, sodaß die Kontrollgruppe mit 28 % den höchsten Anstieg verzeichnet. Die "Reis-Tiere" haben etwa 17 % an Gewicht zugenommen, die gleich ernährten, aber behandelten Gruppen, etwa 14 % (Abb. 1 und 2).

Versuchsreihe II

Unter Gabe der 3,6 %-igen Kochsalzlösung kam es innerhalb weniger Tage zu einer erheblichen Reduktion des Allgemeinzustandes der Ratten. Ihr Fell wurde zunehmend struppig und fleckig. Haarausfall trat auf. Die normalerweise sehr reinlichen Tiere putzten sich nicht mehr. Sie waren unruhig und aggressiv. An Gewicht verloren sie in täglichen Schritten von 9 bis 10 Gramm. Bereits am fünften Tag hatte sich ihr Zustand so verschlechtert, daß die hypertone NaCl-Lösung abgesetzt und durch Aqua bidestillata ersetzt, sowie etwas Reis zugefüttert werden mußte, um dem Exitus der Tiere vorzubeugen.

In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß keine gleichaltrige Sprague-Dawley-Ratte zehn Tage reine Salzwasserernährung überlebt hatte. Die Tiere waren in einem ähnlichen Zustand zwischen fünftem und siebtem Tag nach zusätzlich aufgetretenen Nieren-Darm-Blutungen ad exitum gekommen.

Nach dreitägiger Zufütterung hatte sich das Krankheitsbild unter leichter Gewichtszunahme soweit stabilisiert, daß erneut eine Gewichtsreduzierung, nun unter aus-

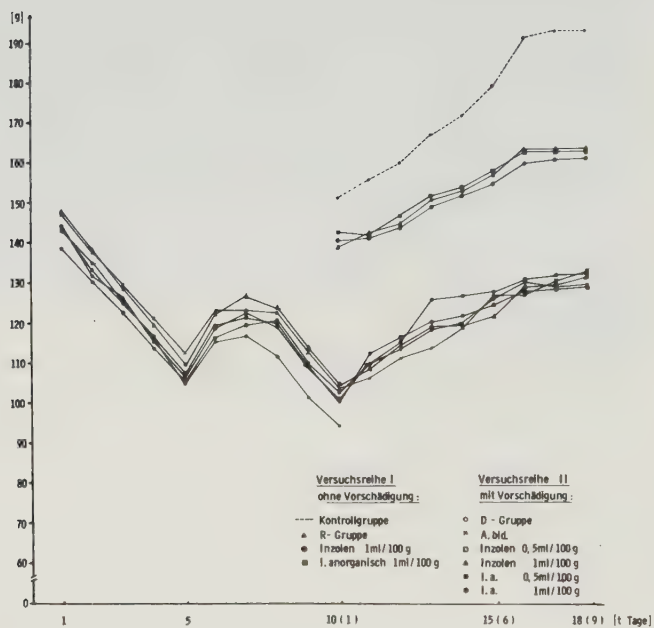


Abb. 1: Gewichtsverhalten der Ratten beider Versuchsreihen

schließlicher Aqua bidest.-Zufuhr angestrebt werden konnte.

Bei Beendigung des ersten Versuchsabschnittes hatten alle Tiere zwischen 29 und 33 % an Gewicht verloren (Abb. 2).

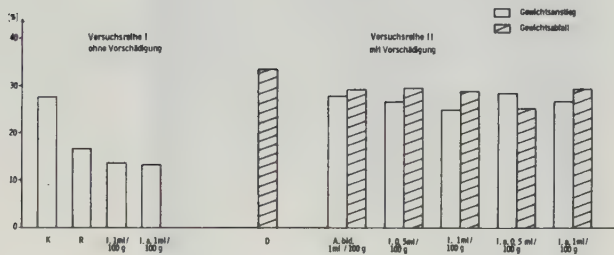


Abb. 2: Gewichtsanstieg und -abfall in %

Der dystrophische Zustand der Ratten ist in Abbildung 3 deutlich zu erkennen.

Unter Ernährung mit Reis und Aqua bidest. ad libitum, sowie Dystrophiebehandlung mit den organischen und anorganischen Spurenelementverbindungen bzw. Aqua bidest. nahmen die Tiere täglich an Gewicht zu und erhielten sich sichtlich. Im Verlauf der Gewichtskurven (Abb. 1) läßt sich bei jeder Gruppe je ein Sprung, sonst aber eine Zunahme in etwa gleich großen Schritten erkennen. Ab 16. Versuchstag nähern sich die Gewichtskurven aller fünf Gruppen an. Bei Versuchsende am 18. Tag ergibt sich bei allen Tieren ein etwa gleicher prozentueller Gewichtsanstieg. Die Injektion der

Spurenelementlösungen beschleunigte auch bei den dystrophischen Ratten die Gewichtszunahme nicht.



Abb. 3: Vergleich einer dystrophischen Ratte (links) mit einem Kontrolltier. Das kranke Tier ist deutlich abgemagert, das Fell ist struppig, die sonst rosig glänzende Haut und Pfoten und Schwanz ausgetrocknet und verkrustet.

Obduktionsbefunde

Versuchsreihe I

Makroskopisch zeigte sich bei der Obduktion nichts Auffälliges. Sämtliche Organe waren gut entwickelt. Leber und Oberschenkelmuskeln hatten bei allen Tieren normale Konsistenz. Abweichungen ergaben sich im Gewicht der Organe. Leber und Oberschenkelmuskeln wogen

bei den Kontrolltieren am schwersten. Die Gewichts-
differenz zwischen Kontrollgruppe und den anderen
drei Gruppen, die jeweils im gleichen Niveau lagen,
war bei der Leber größer als beim Oberschenkelmus-
kel (Abb. 4 und 5).

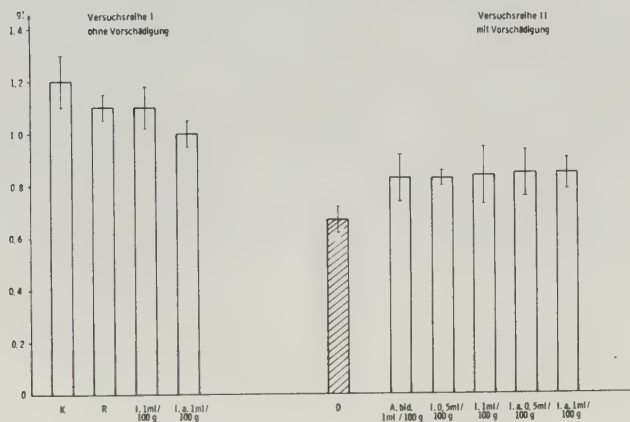


Abb. 4: Frischgewicht des Oberschenkelmuskels

Versuchsreihe II

Die Ratten der Dystrophiegruppe wurden in dem Zu-
stand, wie er in Abbildung 3 zu sehen ist, getötet
und seziiert. Unter struppigem Fell mit dünner Haut
fanden sich kleine, exsilierte Lebern und dystro-
phische Muskulatur. Wie aus Abbildung 4 und 5 abzu-
lesen, spiegelt sich die Dystrophie im Frischgewicht
der Organe deutlich wider, besonders eindrucksvoll
bei der Leber.

Die Muskulatur der behandelten Tiere hat sich bei
allen Gruppen gleich gut erholt. Auch die Leber hat
während der Erholungsphase deutlich an Gewicht zuge-

nommen. Weder Muskel- noch Lebergewicht ließ sich durch die Injektion der organischen bzw. anorganischen Spurenelementlösung zusätzlich steigern.

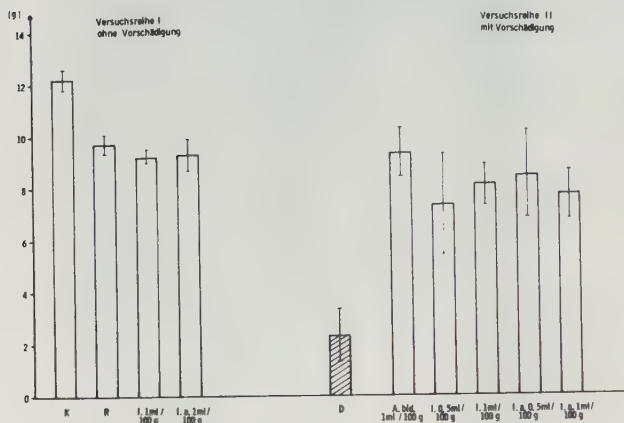


Abb. 5: Frischgewicht der Leber

Mineralanalysen

Kupferanalyse des Oberschenkelmuskels

Zwischen den einzelnen Gruppen der Versuchsreihe I läßt sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Kupfer-Konzentration feststellen. Die Zufuhr von organischen oder anorganischen Spurenelementlösungen bewirkte keine Änderung der Kupfer-Konzentration im Muskel.

Im dystrophischen Zustand änderte sich die Konzentration des Muskel-Kupfers nicht.

Während der Erholungsphase stiegen die Kupfer-Konzentrationen leicht an. Den deutlichsten Anstieg zeigen die Tiere, denen 1 ml der anorganischen Lösung injiziert worden ist. Mit 6,5 µg/g Trocken-

gewicht hat sich die Konzentration im Vergleich zu den unbehandelten Dystrophietieren etwa verdoppelt (Abb. 6).

Ebensowenig wie die Kupfer-Konzentrationen erhöhte sich das Muskel-Gesamtkupfer nach Spurenelementzufuhr bei den gesunden Ratten. Alle vier Gruppen der Versuchsreihe I weisen einen annähernd gleichen Gesamtkupfer-Spiegel im Oberschenkelmuskel auf.

Unter dystrophischen Bedingungen fiel das Gesamtkupfer im Muskel gering ab.

Nach Zufüttern von Reis und Aqua bidest., sowie Injektion der Spurenelementlösungen bzw. Aqua bidest., liegt das Gesamtkupfer wieder im Bereich der Kontrolltiere. Nur die Injektion der anorganischen Lösung in der Dosierung von 1 ml/100 g Körpergewicht führte zu einem stärkeren Anstieg des Gesamtkupfers im Muskel (Abb. 7).

Kupferanalyse der Leber

Wie im Muskel, findet sich auch in der Leber nach intraperitonealer Spurenelementinjektion keine signifikante Änderung der Kupfer-Konzentration.

Etwa um das Dreifache konzentrierte sich das Kupfer in der Leber der Dystrophietiere.

Nach neuntägiger Erholung und dreimaliger Spurenelement- bzw. Aqua bidest.-Injektion nahmen die Kupfer-Konzentrationen bei allen Gruppen in annähernd gleichem Maße ab (Abb. 8).

Das Gesamtkupfer der Leber wurde durch Spurenelementzufuhr nicht beeinflusst. Wie aus Abbildung 9 ersichtlich, bewegen sich die Gesamtkupfer-Spiegel aller Gruppen der Versuchsreihe I - unter Berücksichtigung der Standardabweichungen - etwa auf gleicher Höhe.

Im Zustand der Dystrophie ging aus der Leber kein Kupfer verloren. Der Gesamtkupfer-Spiegel fiel nicht ab. Auch Erholung und Dystrophiebehandlung führten zu keinen Änderungen des Gesamtkupfer-Spiegels der Leber (Abb. 9).

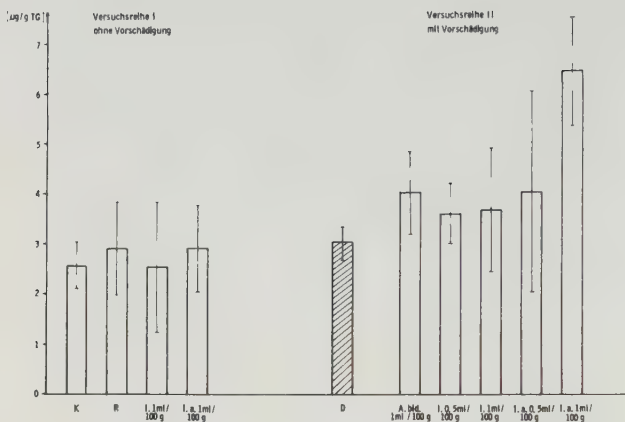


Abb. 6: Kupfer-Konzentration des Oberschenkelmuskels
(Angaben in µg/g TC siehe jeweils Anhang)

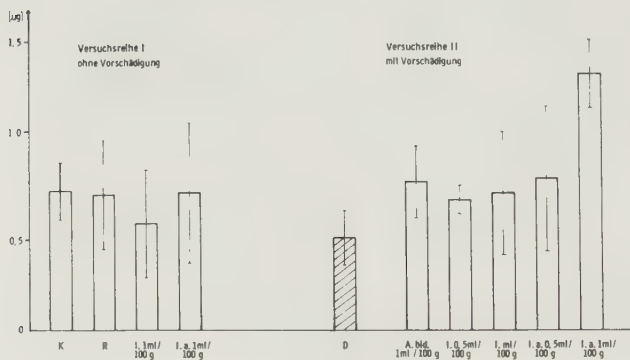


Abb. 7: Gesamtkupfer des Oberschenkelmuskels

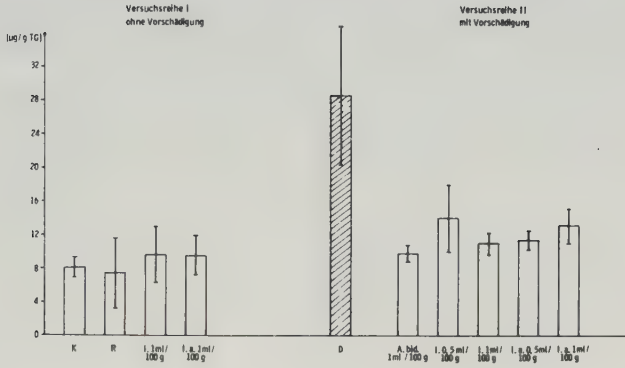


Abb. 8: Kupfer-Konzentration der Leber

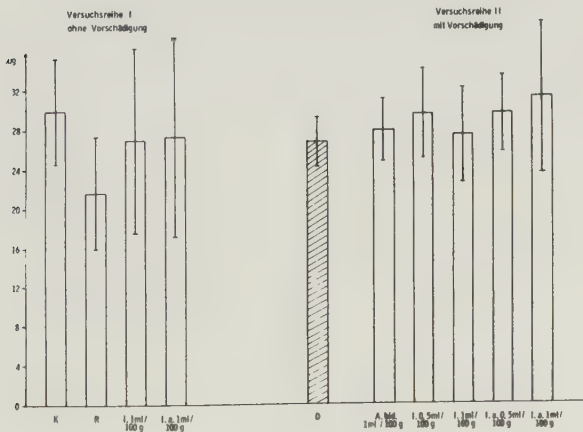


Abb. 9: Grad der Kupfer der Leber

Magnesiumanalyse des Oberschenkelmuskels

Injektion organischer und anorganischer Spurenelementverbindungen führte im Muskel zu keiner Konzentrationssteigerung des Magnesiums.

Im Zustand der Dystrophie stieg die Magnesium-Konzentration deutlich an.

Nach Dystrophiebehandlung ergab sich bei keiner Gruppe eine signifikante Änderung der Magnesium-Konzentration (Abb. 10).

Das Gesamt-magnesium des Muskels zeigt ein ähnliches Bild wie die Konzentration. Auch der Gesamt-magnesium-Spiegel des Muskels erhöhte sich nach Zufuhr der organischen und anorganischen Spurenelementlösung nicht. Dystrophie führte zu keinem Magnesiumverlust. Wie aus Abbildung 11 ersichtlich, ist der Gesamt-magnesium-Spiegel der "D"-Gruppe nicht erniedrigt.

Nach Erholung und Dystrophiebehandlung zeigte das Gesamt-magnesium bei keiner Gruppe eine auffällige Veränderung. Ein besonderer Einfluß auf das Gesamt-magnesium des Muskels kann weder Inzolen^R, noch seinem anorganischen Äquivalent zugesprochen werden.

Magnesiumanalyse der Leber

Zufuhr der Spurenelementverbindungen führte bei den gesunden Ratten zu keinem Anstieg der Magnesium-Konzentration der Leber.

Abbildung 12 zeigt bei den Dystrophietieren eine erhöhte Konzentrierung des Leber-Magnesiums.

Unter Gewichtszunahme gingen die Magnesiumkonzentrationen nach Spurenelementinjektion ebenso in den Normbereich zurück, wie nach Aqua bidest.-Injektion.

Auch das Gesamt-magnesium wurde durch die Gabe der verschiedenen Spurenelementlösungen nicht erhöht.

Während der Hunger- und Durstphase kam es trotz der Konzentrierung des Leber-Magnesiums zu geringen Magnesiumverlusten. In Abbildung 13 läßt sich bei der "D"-Gruppe ein erniedrigter Gesamt-magnesium-Spiegel erkennen.

Im Verlauf der Erholungsphase stieg das Gesamtma-
gnesium der Leber wieder an. Alle behandelten Dystro-
phietiere zeigen annähernd gleich hohe Magnesium-
Spiegel, unabhängig davon, ob Aqua bidest., die or-
ganische oder die anorganische Spurenelementlösung
injiziert wurde (Abb. 13).

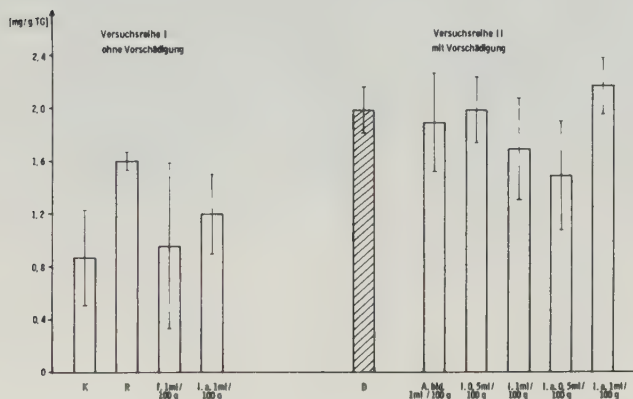
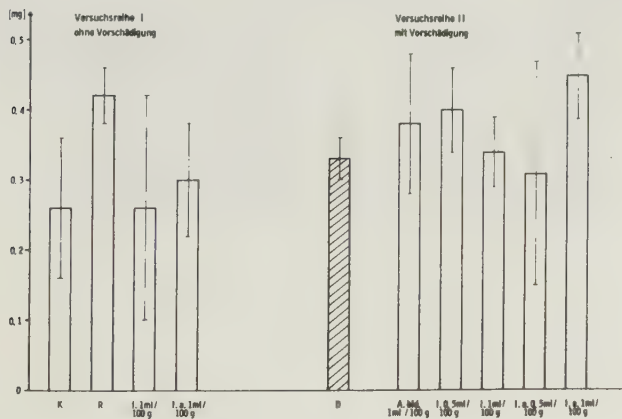


Abb. 10: Magnesium-Konzentration des Oberschenkelmuskels

Abb. 11: (unten) Gesamtmagnesium des Oberschenkelmuskels



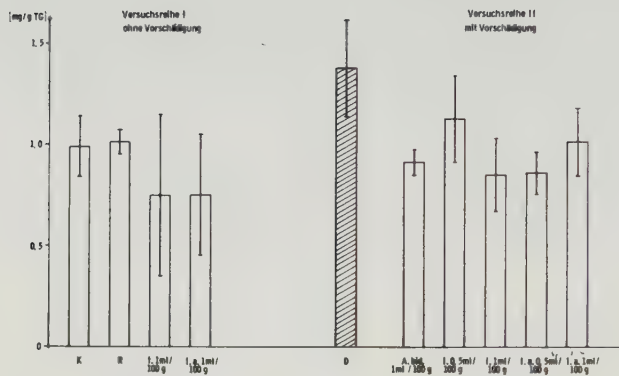


Abb. 12: Magnesium-Konzentration der Leber

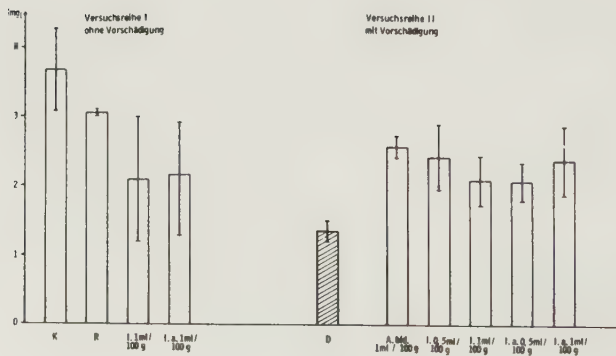


Abb. 13: Gesamtmagnesium der Leber

Histometrie

Oberschenkelmuskel

Die histometrische Auswertung des Oberschenkelmuskels der Ratten aus Versuchsreihe I ergab nur bei der Kontrollgruppe Abweichungen. Im Vergleich zu den anderen drei Gruppen weist sie die doppelte Zellkerndichte bei gering vermindertem Cytoplasmaanteil auf. Zwischen den mit Reis und Aqua bidest. ernährten Tieren und den gleich ernährten, aber zusätzlich mit den verschiedenen Spurenelementlösungen behandelten Ratten ergaben sich keine nennenswerten Unterschiede. Zellkerne, Cytoplasma und Interstitium zeigen jeweils etwa die gleiche prozentuale Verteilung (Abb. 14, Tab. 1).

Gruppe	Zellkerne	Cytoplasma	Interstitium
K	19,2 ± 1,1	71,4 ± 3,9	9,4 ± 2,9
R	10,6 ± 2,4	79,4 ± 5,4	10,0 ± 2,9
I. 1 ml/100 g	8,1 ± 2,0	81,6 ± 2,4	10,3 ± 0,5
I.a. 1 ml/100 g	10,3 ± 1,3	76,3 ± 0,2	12,7 ± 2,1
D	19,8 ± 2,5	62,6 ± 3,0	17,6 ± 1,9
A.bid. 1 ml/100 g	14,0 ± 0,7	70,7 ± 1,0	15,3 ± 1,8
I. 0,5 ml/100 g	11,0 ± 3,4	68,9 ± 4,9	16,1 ± 2,4
I. 1 ml/100 g	13,2 ± 1,4	73,1 ± 3,0	13,8 ± 1,8
I.a. 0,5 ml/100 g	16,9 ± 3,5	68,1 ± 3,4	15,1 ± 1,5
I.a. 1 ml/100 g	17,0 ± 3,9	68,3 ± 5,4	14,7 ± 2,1

Tab. 1: Zählentabelle mit Standardabweichungen zu
Abbildung 14

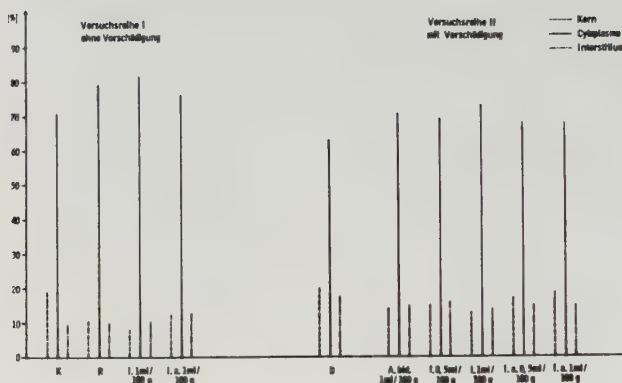


Abb. 14: Prozentuale Verteilung von Zellkernen, Cytoplasma und Interstitium im Oberschenkelmuskel

Dies trifft auch für die behandelten Dystrophietiere aus Versuchsreihe II zu. Verglichen mit der "R"-Gruppe aus Versuchsreihe I waren die Muskelzellen aber noch kleiner, worauf der etwas höhere Anteil an Zellkernen und Interstitium, sowie der geringere Cytoplasmaanteil schließen läßt. Bei der Dystrophiegruppe findet sich der geringste Cytoplasmaanteil, sowie der höchste Prozentsatz an Zellkernen und Interstitium. Dies spricht für kleine, dystrophische Zellen.



Abb. 15: Vergleich des Oberschenkelmuskels einer Kontrollratte mit dem einer dystrophischen Ratte. Die Dystrophie zeigt sich im unteren Bild deutlich durch den Cytoplasmenschwund und die relative Erhöhung des interstitiellen Anteils. (Formalin-Fix., Paraffineinbettung, HE-Färbg., Vergr. 4 x 400)

Leber

Wesentlich deutlicher als im Muskel macht sich die Dystrophie in den Leberzellen bemerkbar. Die Zellkerndichte der Dystrophiegruppe ist auf das Doppelte der Kontrollgruppe gestiegen. Im prozentualen Cytoplasmaanteil ergibt sich eine Abnahme um 30, beim Muskel dagegen nur eine Differenz von 10. Der Prozentsatz an Sinusoiden liegt etwa doppelt so hoch wie bei der Kontrollgruppe (Abb. 16 und 17).

Nach Injektion der Spurenelementlösungen zeigen die Lebern der Tiere aus Versuchsreihe I eine annähernd gleich prozentuale Verteilung von Zellkernen, Cytoplasma und Sinusoiden wie die Kontrolltiere. Beim Vergleich mit der Reisgruppe fällt bei dieser vor allem der wesentlich höhere Prozentsatz an Sinusoiden auf.

Bezüglich der prozentualen Verteilung der Portalfelder zeigt die Gruppe "I. 1 ml/100 g" eine Abweichung nach unten.

Der Zentralvenenanteil ist dagegen bei allen Gruppen aus Versuchsreihe I etwa gleich hoch.

Unabhängig davon, ob den Tieren aus Versuchsreihe II die organische oder anorganische Lösung oder ob Aqua bidest. injiziert worden ist, läßt sich aus Abbildung 15 bei allen Gruppen ein Absinken der Zellkerndichte in den Normalbereich ansehen. Das Cytoplasma hat besonders bei den Gruppen "A. bid." und "I. 0,5 ml/100 g" zugenommen. Ihr Sinusoidenteil pro Gesichtsfeld hat sich gegenüber den unbehandelten Dystrophietieren kaum geändert, während er bei den drei anderen Gruppen aus Versuchsreihe II am Ende der Erholungsphase sogar angestiegen ist.

Der prozentuale Anteil an Portalfeldern liegt bei allen behandelten Tieren aus Versuchsreihe II wesentlich niedriger als bei der "D"-Gruppe. Der Kontroll- und Reisgruppe am nächsten kommen die Ratten, denen Aqua bidest. injiziert wurde (Abb. 18).

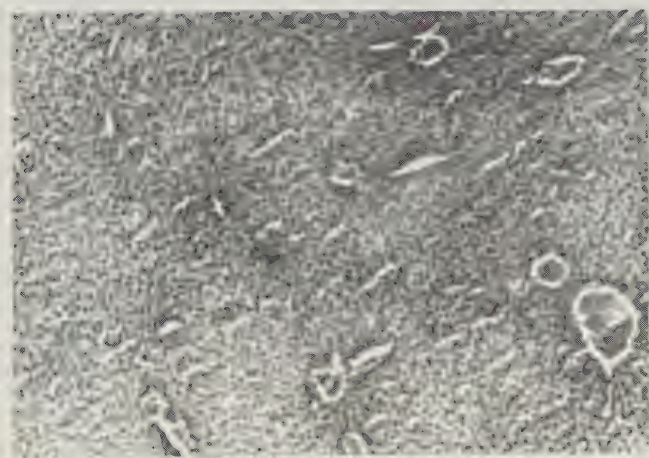
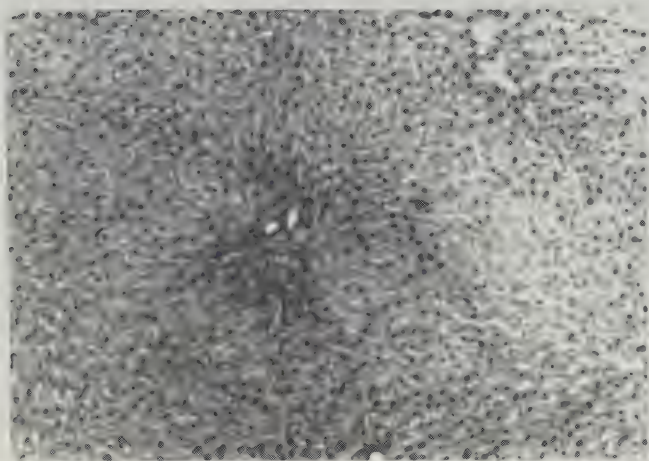


Abb. 1 Vergleich der Leber einer Kontrollratte mit der einer dystrophischen Ratte. Die Dystrophie spiegelt sich im unteren Bild in der erhöhten Zellkerndichte, in der relativen Vermehrung der Portalfelder, sowie im geringeren Cytoplasmaanteil wider. (Formalin-Fix., Paraffineinbettung, HE-Färbg., Vergr. 4 x 400)

Im Gegensatz zu Versuchsreihe I ist bei den Tieren der Versuchsreihe II der Anteil an Zentralvenen sehr unterschiedlich. Ein signifikanter Unterschied zwischen Therapie mit Inzolen^R und der anorganischen Lösung läßt sich nicht feststellen (Abb. 19).

Gruppe	Zellkerne	Cytoplasma	Sinusoiden
K	16,3 ± 3,3	73,1 ± 4,8	10,7 ± 1,5
R	11,9 ± 2,5	67,3 ± 1,5	20,7 ± 3,1
I. 1 ml/100 g	13,3 ± 2,8	75,2 ± 0,8	11,5 ± 1,8
I.a. 1 ml/100 g	16,8 ± 2,0	75,7 ± 3,9	7,5 ± 2,0
D	34,4 ± 2,2	42,6 ± 2,6	22,9 ± 1,8
A. bid. 1 ml/100 g	12,3 ± 1,0	68,5 ± 3,8	19,2 ± 4,7
I. 0,5 ml/100 g	13,8 ± 1,3	65,4 ± 4,3	20,9 ± 4,5
I. 1 ml/100 g	13,3 ± 2,3	58,5 ± 3,0	28,1 ± 2,4
I.a. 0,5 ml/100 g	12,3 ± 1,0	52,9 ± 2,1	34,8 ± 2,0
I.a. 1 ml/100 g	14,2 ± 2,4	51,2 ± 3,6	34,7 ± 1,9

Tab. 2: Zahlentabelle mit Standardabweichungen zu Abbildung 17

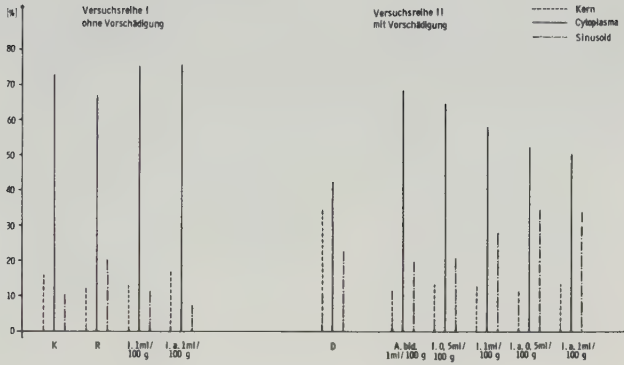


Abb. 17: Prozentuale Verteilung von Zellkernen, Cytoplasma und Sinusoiden in der Leber

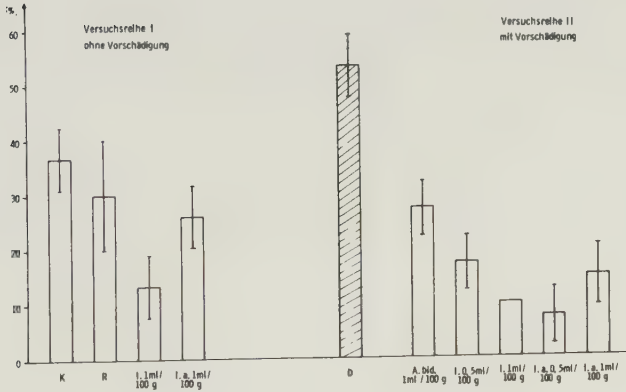


Abb. 18: Prozentuale Verteilung der Portalfelder

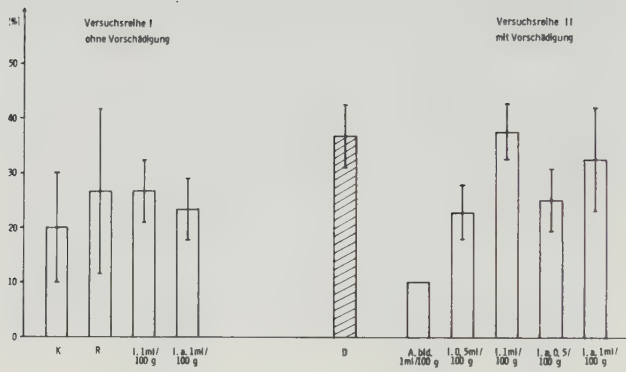


Abb. 19: Prozentuale Verteilung der Zentralvenen

Diskussion

Wenn auch die Funktion des Kupfers für den Stoffwechsel bis heute nur teilweise bekannt ist, so deutet doch das regelmäßige Vorkommen in allen Körperorganen auf seine Wichtigkeit hin (Buddecke 1974). Im allgemeinen enthalten Leber, Herz, Nieren, Gehirn die höchsten Kupfer-Konzentrationen, Muskulatur, Knochen, Milz und Lunge mittlere, während Hypophyse, Schilddrüse und Thymus die niedrigsten Kupfer-Konzentrationen aufweisen (Adelstein und Vallee 1962). Auch in vorliegender Arbeit fanden sich in der Leber höhere Kupfer-Konzentrationen als im Muskel.

Obwohl es zahlreiche Berichte über Spurenelementanalysen verschiedenster Tier- und Pflanzengewebe gibt, ließen sich in der Literatur nur spärlich Vergleichswerte bezüglich der Kupfer-Konzentrationen im Skelettmuskel von Ratten finden. 1950 berichteten Spray und Widdowson über eine Kupfer-Konzentration von 3,8 µg/g Trockengewicht, 1964 fand Owen 1,4 µg, allerdings auf Frischgewicht bezogen. Die Oberschenkelmuskulatur der eigenen Kontrolltiere enthielt 2,6 µg Kupfer pro Gramm Trockengewicht. Die Abweichungen dürften auf die unterschiedlichen Meßmethoden, sowie auf den verwendeten Rattenstamm und die Ernährung zurückzuführen sein.

Sowohl Kupfer-Konzentration als auch Gesamtkupfer zeigten beim Vergleich der einzelnen Gruppen aus Versuchsreihe I keine signifikanten Differenzen. Weder unterschiedliche Ernährung, noch intraperitoneale Injektion von Inzolen^R oder der anorganischen Spurenelementverbindung beeinflusste also bei den gesunden Ratten den Kupfer-Stoffwechsel des Muskels. Überhaupt scheint das Muskel-Kupfer gegenüber Stoffwechselveränderungen im übrigen Organismus recht unempfindlich zu reagieren. Lindow et al. (1929) berichten, daß sich

selbst nach einer täglichen Zufuhr von 5 mg Kupfer zusätzlich zur normalen Nahrung im Muskel keine Änderung beobachten ließ. Unsere Dystrophietiere zeigten nach neuntägiger Hunger- und Durstperiode im Oberschenkelmuskel kein Absinken der Kupfer-Konzentration. Auch das Gesamtkupfer wurde kaum beeinflusst. Während der Erholungsphase dagegen ließen sich Kupfer-Konzentration und Gesamtkupfer des Muskels steigern. Die Injektion der anorganischen Spurenelementlösung in der Dosierung von 1 ml/100 g Körpergewicht erbrachte einen deutlichen Anstieg. Die Kupfer-Konzentration lag um das Doppelte höher als bei den Kontrolltieren. Da sich aber Kupfer-Konzentration und Gesamtkupfer während der Dystrophie kaum verändert hatten, erhebt sich die Frage nach der Bedeutung und Auswirkung einer Kupfer-Konzentrationssteigerung über den Normalbereich hinaus. Ob ein erhöhter Kupfer-Spiegel im Muskel positive oder negative Folgen nach sich zieht, kann an Hand der in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse nicht gesagt werden. Auffällig ist, daß bei den dystrophischen Ratten nach intraperitonealer Injektion der anorganischen Lösung in der Dosierung von 1 ml/100 g Ratte sowohl die Kupfer-Konzentration als auch das Gesamtkupfer anstiegen, während sich bei den gesunden Ratten keine Änderung erkennen ließ.

Eine ganz andere Rolle im Kupfer-Stoffwechsel spielt die Leber. Sie ist das Hauptspeicherorgan für Kupfer (Widdowson und Dickerson 1964, Schütte 1965). In der Leber unserer Kontrolltiere wurde eine Kupfer-Konzentration von 8 ug/g Trockengewicht gemessen. Lindow et al. (1929) fanden Kupfer-Konzentrationen von 11 ug/g, Lorenzen und Smith (1947) 34 ug/g, Spray und Widdowson (1950) beschrieben 10 ug/g und Kollmer (1972) 20 ug/g. Für die abweichenden Werte dürften einerseits die unterschiedlichen Kupfer-Bestimmungsmethoden, andererseits aber auch die ungleichen Ver-

suchsbedingungen verantwortlich sein, da besonders die Leber-Kupfer-Spiegel von Alter, Hormonen und Nahrungszusammensetzung beeinflusst werden (Adelstein und Vallee 1964).

Da nach Zufuhr der organischen, wie auch der anorganischen Spurenelementlösung, kein Anstieg der Kupferkonzentration und des Gesamtkupfers in der Leber zu beobachten war, muß angenommen werden, daß entweder das Kupfer in den Lösungen zu niedrig dosiert ist, oder eine Wirkung erst nach längerdauernder Zufuhr eintritt. Eine hohe Zufuhr von Kupfer mit der Nahrung wird bei Ratten im allgemeinen mit einem Konzentrationsanstieg in der Leber beantwortet (Tindow et al. 1929, Weser 1964). Besonders empfindlich auf den Kupfergehalt der Nahrung reagieren Schafe. Die Leber-Konzentration steigt bei ihnen linear mit der Kupferaufnahme (Adelstein und Vallee 1964).

Lal und Sourkes (1971) berichten, daß von verschiedenen Untersuchern bei Schaf, Ratte und Schwein der Beweis für eine Schwelle geliefert wurde, ab der es zur Anhäufung von Kupfer in der Leber kommt. Sie selbst fanden bei Ratten, daß eine Dosis von 0,5 bzw. 0,3 mg Cu/kg nötig sind, um nach 12 bzw. 18 wöchiger intraperitonealer Zufuhr die Leber-Kupfer-Spiegel zu heben. Nach dieser Zeit fanden sie eine lineare Beziehung zwischen Leber-Konzentration und Dosierung.

Im Zustand der Dystrophie trat eine starke Konzentrierung des Kupfers in der Leber auf. Harrison (1953) kam zu der gleichen Feststellung nach sechstägigem Hungern bei Ratten. Da das Gesamtkupfer der Leber bei unseren Dystrophietieren unverändert blieb, kann davon ausgegangen werden, daß während einer Dystrophie - zumindest während einer relativ kurz bestehenden - die Kupfer-Speicher der Leber nicht geleert werden. Nach Cunningham (1946) soll zwar ein Mangel an Kupfer in der Nahrung bei Rindern und Schafen zu verminderten Leber-

Kupfer-Konzentrationen führen, doch wie die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, kann eine Verminderung sicher erst nach langdauerndem Mangel eintreten. Auch Dempsey et al. (1958) beschreiben bei Ratten ein rasches Absinken der Serumkonzentrationen, aber eine langsame Verminderung des Leberkupfergehaltes nach Entzug des Nahrungskupfers.

Nachdem sich die Tiere der Versuchsreihe II erholt hatten, waren die Kupfer-Konzentrationen bei allen Gruppen infolge der Gewichtszunahme der Lebern nahezu auf Normalwerte zurückgegangen. Die Gesamtkupfer-Spiegel der Lebern zeigten nach wie vor weder untereinander noch im Vergleich zu den Kontrolltieren wesentliche Abweichungen. Für die Erholung und Gewichtszunahme, sowie für den Kupfer-Stoffwechsel der Leber, war es offensichtlich ohne Bedeutung, ob außer Ernährung mit Reis und Aqua bidest. ad libitum zusätzlich Aqua bidest., Inzolen^R oder die anorganische Spurenelementlösung injiziert worden war.

In der Literatur herrscht noch Unklarheit bezüglich der Rolle, die dem Skelettmuskel im Magnesium-Stoffwechsel zukommt. In dieser Arbeit zeigte sich das Muskel-Magnesium sehr unempfindlich. Die Magnesium-Konzentration im Oberschenkelmuskel unserer Kontrolltiere betrug $0,9 \pm 0,4$ mg/g Trockengewicht, die der Reistiere $1,6 \pm 0,1$ mg/g TG. Ein effektiver Vergleich mit den in der Literatur gefundenen Werten ist nicht möglich, da jeder Untersucher andere Bezugsgrößen für die Konzentrationsangaben verwendet.

Weder die Zufuhr von Inzolen^R, noch die Injektion der anorganischen Spurenelementlösung führte im Skelettmuskel der gesunden Ratten zu einer Anreicherung von Magnesium. Für eine relative Stabilität des Muskelmagnesiums spricht auch das nicht erniedrigte Gesamt-magnesium der Dystrophietiere. Neuntägiges Hungern

und Dursten bewirkte zwar eine Reduktion des Muskelgewichtes, aber keinen Magnesium-Verlust. Diese Feststellung steht in Einklang zu Berichten anderer Untersucher (Chutkow 1965, Ko et al. 1962, Smith und Field 1963), die bei Magnesium-Mangel-Ratten keinen Abfall des Muskelmagnesiums beobachten konnten. Hunt (1971) fand nicht einmal bei Ratten, die nach Krämpfen infolge eines Magnesiummangels gestorben waren, eindeutig erniedrigte Magnesium-Konzentrationen im Oberschenkelmuskel. Allerdings gibt es auch gegenläufige Veröffentlichungen. Martindale und Heaton (1964) sowie Macintyre und Davidson (1958) stellten erniedrigte Magnesiumwerte im Skelettmuskel von Magnesium-Mangel-Ratten fest. Auch beim Menschen ist man auf widersprüchliche Befunde gestoßen. Es fällt aber auf, daß in den Fällen, in denen das Muskelmagnesium signifikant gesunken war, schwere allgemeine Stoffwechselstörungen vorlagen, wie beispielsweise bei den stark unterernährten Kindern aus verschiedenen Entwicklungsländern, über die Kerpel-Fronius (1975) berichtete. Bei einem experimentell erzeugten reinen Magnesiummangel fanden Dunn und Walser (1966) lediglich einen Abfall der Magnesium-Konzentration in Plasma und Erythrozyten, aber einen unveränderten Muskel-Magnesiumgehalt. Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kann gefolgert werden, daß eine verhältnismäßig kurze Krankheitsdauer zu keinem Abfall des Muskelmagnesiums führt.

Nach Dystrophiebehandlung und Erholung änderte sich das Gesamt-magnesium des Oberschenkelmuskels nicht.

Interessanterweise fand sich in der Leber unserer Kontrolltiere eine annähernd gleich hohe Magnesium-Konzentration wie im Oberschenkelmuskel, nämlich $1,0 \pm 0,2$ mg/g Trockengewicht. Intraperitoneale Zufuhr von Inzolen^R und der anorganischen Säuerelementlösung hatte bei den gesunden Ratten kein Anstei-

gen des Lebermagnesiums zur Folge.

Nachdem Schaller et al. (1975) bei stoffwechselgesunden Patienten nach intravenöser Magnesiumgabe trotz stark ansteigender renaler Ausscheidung eine positive Magnesium-Bilanz bei unveränderten Serum-Konzentrationen gefunden hatten, in vorliegender Arbeit aber eine Anreicherung weder im Muskel, noch in der Leber gefunden wurde, muß der geringe Anteil an Magnesium, der nach parenteraler Zufuhr im Organismus zurückbleibt, in einem anderen Organ abgelagert werden. Magnesium-Mangel-Ratten, denen eine magnesiumreiche Diät gefüttert wurde, reicherten große Mengen des Magnesiums im Knochen an (Wacker und Vallee 1964).

Etwas leichter als im Muskel scheint in der Leber der Magnesiumbestand anzugreifen zu sein. Die Leber der Dystrophiegruppe hatte zwar unter starkem Gewichts-schwund Magnesium konzentriert, doch ist es auch zu geringen Verlusten gekommen, was aus dem erniedrigten Gesamtmagnesium der Leber geschlossen werden kann. Bei Magnesium-Mangel-Ratten fanden auch Martindale und Heaton (1964) eine Abnahme des Gesamtmagnesiums und zwar ab dem Zeitpunkt, ab welchem sie eine Leber-atrophie annahmen.

Während der Erholungsphase stieg das Gesamtmagnesium der Leber an. Offensichtlich wird also der Leber bei Bedarf vom Organismus Magnesium zur Verfügung gestellt. Die Leber verdoppelte ihr Gewicht in dieser Phase. Aus dem keineswegs geringeren Gewichtsanstieg und Gesamtmagnesium der Leber der "Aqua bidest."-Gruppe gegenüber den mit Spurenelementlösungen behandelten Tieren ist zu ersehen, daß die Umkehrung von der katabolen in die anbole Stoffwechsellaage nur durch die Zufütterung von Reis und Aqua bidest. ad libitum gegeben war. Die intraperitoneale Zufuhr von Inzolen^R und der anorganischen Lösung führte zu kei-

ner vermehrten Zunahme des Gesamtmagnesiums oder der Magnesium-Konzentration.

Die Histometrie läßt auf die Organgröße und besonders auf die Größe der einzelnen Zellen schließen. Für Leberparenchymschwund spricht ein Zusammenrücken von Portalfeldern und Zentralvenen, verglichen mit den Lebern der Kontrolltiere. Außerdem weisen eine erhöhte Zellkern-, Sinusoid- und Interstitiumdichte bei vermindertem Cytoplasmaanteil auf eine Dystrophie der einzelnen Zelle hin.

Unter Berücksichtigung dieser Kriterien läßt sich im histologischen Bild das Ausmaß der Erkrankung und Erholung beurteilen. Somit kann auch an Hand der histometrischen Ergebnisse weder Inzolen^R, noch der anorganischen Lösung seiner Bestandteile bezüglich der Erholung von Leber und Oberschenkelmuskel unserer Ratten ein fördernder Einfluß zugesprochen werden.

Zusammenfassung

Es wurde ein Dystrophiemodell geschaffen, in dem Ratten in einen stark reduzierten Zustand gebracht werden sollten, wie dies bei Intensivpatienten häufig der Fall ist. Sehr rasch ließ sich ein solcher Zustand durch die Gabe von 3,6 %-iger Kochsalzlösung herbeiführen. Anschließend wurde untersucht, inwieweit intraperitoneale Spurenelementzufuhr in Form von Inzolen^R und einer anorganischen Lösung von Inzolenbestandteilen die Erholung bzw. Gewichtszunahme der kranken Ratten, sowie den Kupfer- und Magnesium-Spiegel von Oberschenkelmuskel und Leber beeinflusst. Gleiche Kriterien wurden zum Vergleich bei gesunden Ratten geprüft.

Eine vermehrte Gewichtszunahme gegenüber den jeweiligen Kontrollgruppen nach Spurenelementinjektion konnte weder bei den gesunden, noch bei den kranken Tieren beobachtet werden. Zwischen Inzolen^R und der anorganischen Lösung ergab sich kein Unterschied. Im Zustand der kurzdauernden Dystrophie ging aus Skelettmuskel und Leber kein Kupfer verloren. Die Zufuhr der vorliegenden Spurenelementlösungen führte bei den gesunden Ratten zu keiner Kupferanreicherung im Muskel. Im Oberschenkelmuskel der kranken Tiere bewirkte die intraperitoneale Injektion der anorganischen Lösung in der Dosierung von 1 ml/100 g Körpergewicht einen Anstieg von Kupfer-Konzentration und Gesamtkupfer. In der Leber ließ sich mit den verwendeten Spurenelementverbindungen bei keinem Tier der Kupfer-Spiegel beeinflussen.

Magnesiumverlust des Oberschenkelmuskels konnte bei den Dystrophietieren nicht festgestellt werden, jedoch ein geringes Absinken des Lebermagnesiums. Nach Injektion von Inzolen^R und der anorganischen Lösung änderte sich das Muskelmagnesium weder bei den

gesunden, noch bei den kranken Ratten. Ebensowenig ließen sich Magnesium-Konzentration und Gesamtmagnesium in der Leber steigern.

Abschließend kann somit gesagt werden, daß die Kupfer- und Magnesiumspeicher in Leber und Skelettmuskulatur bei akuter Erkrankung nicht oder nur äußerst gering angegriffen werden und somit kein Mangel auftritt.

Diese Feststellung, sowie die Tatsache, daß sich weder das Gewicht, noch der Kupfer- und Magnesium-Spiegel der Organe steigern ließen, lassen der Zufuhr von Inzolen^R oder seiner anorganischen Lösung keine entscheidende Bedeutung zukommen.

Anhang

Tabellarische Übersicht der Mineralanalyse in "uMol"

Kupferanalyse des Oberschenkelmuskels

Gruppe	Cu-Konzentration (uMol)	Gesamt-Cu (uMol)
K	0,04 ± 0,01	0,012 ± 0,003
R	0,05 ± 0,01	0,011 ± 0,005
I. 1 ml/100 g	0,04 ± 0,02	0,010 ± 0,005
I.a. 1 ml/100 g	0,05 ± 0,01	0,011 ± 0,006
	0,05 ± 0,01	0,008 ± 0,002
A.bid. 1 ml/100 g	0,06 ± 0,01	0,013 ± 0,003
I. 0,5 ml/100 g	0,06 ± 0,01	0,011 ± 0,001
I. 1 ml/100 g	0,06 ± 0,02	0,011 ± 0,005
I.a. 0,5 ml/100 g	0,06 ± 0,03	0,013 ± 0,006
I.a. 1 ml/100 g	0,10 ± 0,02	0,021 ± 0,002

Kupferanalyse der Leber

Gruppe	Cu-Konzentration (uMol)	Gesamt-Cu (uMol)
K	0,13 ± 0,02	0,45 ± 0,02
R	0,12 ± 0,06	0,34 ± 0,09
I. 1 ml/100 g	0,15 ± 0,05	0,42 ± 0,14
I.a. 1 ml/100 g	0,14 ± 0,03	0,43 ± 0,16
D	0,45 ± 0,13	0,42 ± 0,03
A. bid. 1 ml/100 g	0,15 ± 0,01	0,44 ± 0,05
I. 0,5 ml/100 g	0,22 ± 0,06	0,47 ± 0,07
I. 1 ml/100 g	0,17 ± 0,02	0,43 ± 0,08
I.a. 0,5 ml/100 g	0,18 ± 0,01	0,46 ± 0,05
I.a. 1 ml/100 g	0,20 ± 0,03	0,49 ± 0,12

Magnesiumanalyse des Oberschenkelmuskels

Gruppe	Mg-Konzentration (uMol)	Gesamt-Mg (uMol)
K	35,4 ± 14,8	10,7 ± 4,1
R	65,8 ± 2,5	17,3 ± 1,6
I. 1 ml/100 g	39,1 ± 26,3	10,7 ± 6,5
I.a. 1 ml/100 g	49,3 ± 12,3	12,3 ± 3,3
D	81,9 ± 7,4	13,6 ± 1,2
A.bid. 1 ml/100 g	77,3 ± 15,6	15,6 ± 4,1
I. 0,5 ml/100 g	81,9 ± 10,2	16,5 ± 2,5
I. 1 ml/100 g	69,5 ± 16,0	14,0 ± 2,1
I.a. 0,5 ml/100 g	61,3 ± 16,9	12,8 ± 6,6
I.a. 1 ml/100 g	89,3 ± 8,6	18,5 ± 2,5

Magnesiumanalyse der Leber

Gruppe	Mg-Konzentration (μMol)	Gesamt-Mg (μMol)
K	40,9 $\pm$ 6,1	151,9 $\pm$ 24,7
R	45,3 $\pm$ 2,5	125,9 $\pm$ 4,1
I. 1 ml/100 g	30,9 $\pm$ 16,4	85,0 $\pm$ 37,0
I.a. 1 ml/100 g	30,9 $\pm$ 12,3	88,9 $\pm$ 31,7
D	56,4 $\pm$ 9,5	54,7 $\pm$ 6,2
A.bid. 1 ml/100 g	37,4 $\pm$ 2,5	105,3 $\pm$ 6,6
I. 0,5 ml/100 g	46,1 $\pm$ 8,6	99,6 $\pm$ 19,8
I. 1 ml/100 g	34,6 $\pm$ 7,4	86,0 $\pm$ 14,4
I.a. 0,5 ml/100 g	34,9 $\pm$ 4,1	84,8 $\pm$ 11,9
I.a. 1 ml/100 g	41,6 $\pm$ 6,9	97,9 $\pm$ 20,6

Literaturverzeichnis

1. Adelstein, S. J., B. L. Vallee: Copper. In: Mineral Metabolism, Part B, Vol. II, Chapter 32. Hrgg. C. L. Comar, Felix Bronner, Academic Press, New York and London 1962
2. Brandt, G.: Quantitative Analyse von Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu und Zn in verschiedenen Organen. Ärztl. Lab. 21: 101 - 106 (1975)
3. Buddecke, E.: Grundriss der Biochemie. Walter de Gruyter Verlag, Berlin-New York 1974
4. Burck, H.-Chr.: Histologische Technik, Leitfaden zur Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis, 2. überarb. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1969
5. Chutkow, J. G.: Studies on the metabolism of magnesium in the magnesium-deficient rat. J. Lab. Clin. Med. 65: 912 - 926 (1965)
6. Cunningham, I. J.: Copper deficiency in cattle and sheep on peat lands. New Zealand J. Sci. Technol. 27 A: 381 - 396 (1946)
7. Dempsey, H., Cartwright G. E., M. L. McIntrobe: Copper metabolism. XXV. Relation between serum and liver copper. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92: 520 - 523 (1958)
8. Dunn, M. J., M. Walser: Mg-depletion in normal man. Metab., Clin. Exp. 15: 884 - 895 (1966)

9. Harrison, I. P.: Effect of starvation on the composition of the liver cell. Biochem. J. 55: 204 - 211 (1953 b)
10. Hunt, B. J.: Age and Magnesium deficiency in the rat with emphasis on bone and muscle magnesium. Am. J. Physiol., 221 (6): 1809 - 1817 (1971)
11. Kerpel-Fronius, E.: Vernachlässigte Elemente bei Unterernährung. In: Spurenelemente in der Entwicklung von Mensch und Tier, Hrsg. K. Detke, F. Bidlingmaier, Verlag U&S, München-Berlin-Wien 1975
12. Ko, K. W., F. X. Fellers, J. M. Craig: Observations on magnesium deficiency in the rat. Lab. Invest. 11: 294 - 305 (1962)
13. Kollmer, W. E., P. Schramel, K. Samsahl: Simultaneous determination of nine elements in some tissues of the rat, using neutron activation analysis. Phys. Med. Biol. 17: 555 - 562 (1972)
14. Lal, S., T. L. Sourkes: Deposition of Copper in Rat Tissues - The Effect of Dose and Duration of Administration of Copper-Sulfate. Toxicol. Appl. Pharmacol. 20: 269 - 283 (1971)
15. Lang, K.: Wasser, Mineralstoffe, Spurenelemente, Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt 1974
16. Lindow, C. W., W. H. Peterson, H. Steenbock: The copper metabolism of the rat. J. Biol. Chem. 84: 419 - 436 (1929)

17. Lossnitzer, K.: Zur quantitativen Bestimmung von Kalium, Natrium, Magnesium und Kalzium im Herzmuskelgewebe in Kalium-Magnesium-Aspartat. Hrsg. v. K. Horatz und P. Rittmeyer. Medicus Verlag GmbH, Berlin 1973
18. MacIntyre, I., D. Davidson: The production of secondary potassium depletion, sodium retention, nephrocalcinosis and hypercalcaemia by magnesium deficiency. *Biochem. J.* 70: 456 - 462 (1958)
19. Martindale, L., F. W. Heaton: Magnesium deficiency in the adult rat. *Biochem. J.* 92: 119 - 126 (1964)
20. Owen, Charles A. Jr.: Distribution of copper in the rat. *Am. J. Physiol.* 207 (2): 446 - 448 (1964)
21. Schaller, K. H., S. Matzkies, G. Berg: Zink- und Magnesiumbilanzen bei Langzeitinfusion von Kohlehydraten bei Gesunden. *Z. Ernährungswiss.* 14: 295 - 301 (1975)
22. Schütte, K. H.: Biologie der Spurenelemente. Bayerischer Landwirtschaftsverlag BLV, München-Basel-Wien 1965
23. Smith, B. S. W., A. C. Field: Effect of ure on magnesium deficiency in rats. *Brit. J. Nutr.* 17: 591 - 600 (1963)
24. Spray, C. M., E. M. Widdowson: The effect of growth and development on the composition of mammals. *Brit. J. Nutrition* 4: 332 - 353 (1950)

25. Facker, W. E. C., B. L. Vallee: Magnesium.
In: Mineral Metabolism, Part A, Vol. II,
Chapter 22. Hrsg. C. L. Comar, Felix Bronner,
Academic Press, New York and London 1964
26. Welz, B.: Atom-Absorptions-Spektroskopie.
Verlag Chemie GmbH, Weinheim Bergstraße 1972
27. Weser, U.: Untersuchungen zur Cu-Absorption im
tierischen Organismus (Auszug). Fakultät für
Landwirtschaft und Gartenbau, Technische Hoch-
schule München 1964
28. Widdowson, E. M., J. W. T. Dickerson: Chemical
Composition of the Body. In: Mineral Metabolism,
Part A, Vol. II, Chapter 17. Hrsg. C. L. Comar,
Felix Bronner, Academic Press, New York and Lon-
don 1964

Lebenslauf

Am 12. Februar 1951 wurde ich, L u i s e Franziska Müller-Engeßer, geb. Engeßer, als erstes Kind meiner Eltern Alfred und Anneliese Engeßer, geb. Haltemeyer, in Parsberg/Opf. geboren.

Vom 6. bis zum 12. Lebensjahr besuchte ich die Volksschule in Parsberg. Die Mittlere Reife erwarb ich durch Abschluß der vierjährigen Realschule bei den Englischen Fräulein in Regensburg.

Nach vierjährigem Besuch des Abendgymnasiums in Regensburg legte ich 1973 die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1973 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Regensburg. Nach dem Physikum trat ich im Wintersemester 1975 an die Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg über.

Im Januar 1976 verheiratete ich mich mit Dieter Müller in Heroldsberg. Am 14. Mai 1979 gebar ich unser erstes Kind.

Die Ärztliche Prüfung legte ich am 14. Oktober 1980 in Erlangen ab. Am 14. November 1980 wurde mir die Approbation als Arzt erteilt.

L u i s e Müller-Engeßer

